

مقاومت آنتی بیوتیکی و ردیابی حضور ژن *fimH* در جدایه های اشریشیاکلی بدست آمده از انسان و طیور گوشتی

راحم خوشبخت^{۱*}، سیده هانیه هادی نژاد^۲، مجتبی خسروی^۱، عباس میهن خواه^۳،
مائده صلواتی^۴، علی محبت^۵

۱- استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوریهای نوین آمل، آمل، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی علوم آزمایشگاهی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوریهای نوین آمل، آمل، ایران

۳- کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۴- کارشناسی ارشد بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۵- دکترای تخصصی میکروبیشناسی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۷/۲/۳۰

چکیده

یکی از منابع بالقوه ی عفونت های باکتریایی در انسان و خصوصاً عفونت های ناشی از باکتری اشریشیاکلی، طیور پرورشی می باشد. مطالعات مختلف قرابت های ژنتیکی را بین سویه های پاتوژن پرندگان (APEC) و سایر سویه های بیماریزای انسان نشان داده است. در این مطالعه ضمن ردیابی حضور ژن *fimH* که از عوامل اتصال و کلونیزه شدن باکتری در غشاهای مخاطی می باشد، مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های مختلف اشریشیاکلی بدست آمده از طیور گوشتی و انسان با یکدیگر مقایسه و بررسی شد. پس از جمع آوری و شناسایی جدایه ها (شامل ۲۶ جدایه انسانی و ۶۰ جدایه طیور گوشتی)، ابتدا DNA تام میکروارگانسیم ها با روش جوشاندن استخراج شده و سپس با کمک پرایمرهای اختصاصی ژن مورد نظر با روش واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) مورد ردیابی قرار گرفت. همچنین مقاومت سویه های مورد مطالعه نسبت به ۱۴ آنتی بیوتیک مختلف با کمک روش انتشار دیسک (Disk diffusion method) ارزیابی و تعیین شد. در مجموع از میان ۸۶ سویه اشریشیاکلی مورد مطالعه، ژن *fimH* در میان ۵۳ جدایه (۶۱/۶۲٪) ردیابی و شناسایی شد. همچنین جدایه ها، مقاومت بالایی را به آنتی بیوتیک های اکساسیلین (۹۳/۰۲٪)، کلیستین (۹۱/۸۶٪) و سفالکسین (۸۹/۵۳٪) نشان دادند. بر اساس نتایج بدست آمده حضور ژن مورد نظر در میان جدایه های انسانی به طور معناداری ($P < 0.05$) بیشتر از جدایه های بیماریزای پرندگان بود. در مجموع ۷۰ الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه ها مشاهده شد و بررسی آنها تفاوت آشکار الگوهای غالب در جدایه های با منبع متفاوت را نشان داد که می تواند به دلیل مصرف آنتی بیوتیک های متفاوت در درمان عوارض ناشی از این باکتری در انسان و دام باشد.

کلمات کلیدی: اشریشیاکلی، *fimH*، مقاومت آنتی بیوتیکی

* نویسنده مسئول: راحم خوشبخت

آدرس: گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوریهای نوین آمل، آمل، ایران. تلفن: ۴۴۲۷۱۰۵۴-۱۱
پست الکترونیک: r.khoshbakht@ausmt.ac.ir

مقدمه

اشریشیاکلی یک باکتری گرم منفی روده‌ای است که به خانواده ی انتروباکتریاسه تعلق دارد. این باکتری علاوه بر نقش فلور طبیعی در دستگاه گوارش به عنوان یکی از عوامل اصلی عفونت های سیستمیک و گوارشی و مرگ و میر در حیوانات و انسان در سراسر جهان گزارش شده است (۵). در حال حاضر تولیدات دام و طیور به عنوان یکی از مهم ترین بخش های صنایع غذایی در بسیاری از کشورها از جمله ایران، نقش بسیار مهمی در انتقال اشریشیاکلی بیمارزا و بروز مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک ها در جوامع در حال توسعه دارد.

استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک ها بخصوص در صنعت پرورش دام، احتمالاً مهم ترین عاملی است که باعث ظهور مقاومت آنتی بیوتیکی می باشد (۲۹). اغلب در پرورش حیوانات مرتبط با زنجیره ی غذایی استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک ها در سطح وسیعی رایج است و در نتیجه ی این استفاده ی بیش از حد، وقوع بیماری های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک در سال های اخیر افزایش یافته است. اغلب در مزارع پرورشی طیور در زمان بروز بیماری ها، تمام گله شامل تمام حیوانات بیمار و سالم، تحت درمان آنتی بیوتیکی قرار می گیرند و استفاده از آنتی بیوتیک ها در غیاب بیماری ها از ابتلا به آن ها به هنگام مواجهه با عفونت ها پیشگیری می کند (۸). این عمل در کشورهای درحال توسعه که حضور پاتوژن روده ای در مزارع طیور شیوع زیادی دارد بسیار رایج است (۱۵، ۲۶).

اشریشیاکلی بیمارزای پرندگان تحت عنوان Avian pathogenic *E. coli* (APEC) در حال حاضر یک عوامل مهم عفونت در صنعت طیور در سراسر جهان است و هر ساله زیان های اقتصادی وابسته به این سویه ها

در زنجیره پرورش طیور اتفاق می افتد. سویه های اشریشیاکلی بیمارزای پرندگان متعلق به اشریشیاکلی های بیمارزای خارج روده ای (ExPEC) هستند که یکی از عوارض ناشی از این سویه ها عفونت دستگاه ادراری ناشی از سویه های اشریشیاکلی اوروپاتوژن یا Uropathogenic *E. coli* (UPEC) در انسان است که از شایع ترین بیماری هایی است که نیاز به درمان آنتی بیوتیکی دارد و از رایج ترین عفونت های بیمارستانی نیز محسوب می شود (۶، ۱۱). این عفونت توسط سویه های اشریشیاکلی خارج روده ای ایجاد می شود و به نظر می رسد ارتباطی بین جدایه های طیور اشریشیاکلی و این جدایه های عفونت ادراری یا Urinary tract infection (UTI) وجود داشته باشد (۹، ۲۰).

سویه های UPEC برای ایجاد عفونت باید به بافت پوششی مجاری ادراری متصل شوند. در واقع یک گام مهم در فرآیند ایجاد عفونت این سویه ها قدرت چسبندگی به اپی تلیوم است. این امر موجب می شود تا باکتری بر مکانیسم مقاومتی میزبان غلبه کرده و موفقیت بیشتری در امر کلونیزه شدن حاصل شود (۱۲). پدیده چسبندگی به واسطه پیلی تیپ ۱ است که دارای ساختاری پروتئینی است و در غشای خارجی بیشتر سویه های اشریشیاکلی و چندی دیگر از اعضای انتروباکتریاسه وجود دارد. قدرت چسبندگی که توسط پیلی تیپ ۱ مطرح شده، نقش اصلی را در حدت APEC بازی می کند (۲۱). بخش مهمی از پیلی تیپ ۱ زیر واحد کوچکی به نام fimH است که یک واسطه برای چسبندگی به سلول های اپی تلیال و بسیاری دیگر از سلول ها می باشد. گفته می شود که fimH برای ایجاد عفونت دستگاه ادراری و همچنین ایجاد واکنش سیستم ایمنی میزبان ضروری است و عدم حضور این



مقاومت آنتی بیوتیکی و ردیابی حضور... ۵۱

انجام آزمون‌های دیگر با استفاده از محیط کشت آبگوشت مغذی و گلیسرول به میزان ۲۰ درصد درون فریزر با دمای ۲۰- درجه نگهداری شدند.

تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی

در این تحقیق برای سنجش حساسیت میکروبی سویه‌های جداسازی شده نسبت به ۱۴ آنتی بیوتیک مختلف که در جدول ۱ لیست شده‌اند از آزمون انتشار دیسک بر اساس معیارهای مؤسسه استاندارد آزمایشگاه و بالین یا Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) استفاده شد (۲۹). دیسک‌های مورد استفاده شامل آمپی سیلین (AMP، ۱۰ µg)، سفکسیم (CFM، ۳۰ µg)، سولفامتوکسازول-تری متوپریم (SXT، ۳۰ µg)، کلیستین (CL، ۱۰ µg)، سیروفلوکساسین (CIP، ۵ µg)، فلورفنیکل (FF، ۳۰ µg)، سفوتاکسیم (CTX، ۳۰ µg)، سفالکسین (CN، ۳۰ µg)، جنتامایسین (GM، ۱۰ µg)، سفالوتین (CF، ۳۰ µg)، نالیدیکسیک اسید (NA، ۳۰ µg)، اکساسیلین (OX، ۳۰ µg)، اکسی-تتراسایکلین (T، ۳۰ µg) و ایمپنم (IPM، ۱۰ µg) بودند. همه آنتی بیوتیک‌ها از شرکت‌های مدیای کشور هندوستان تهیه شدند. در این روش چند کلنی از کشت ۲۴ ساعته خالص باکتری را در ۲ میلی لیتر محیط کشت نوترینت برات (های مدیا، هندوستان) کشت داده و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه قرار داده شد تا کدورت آن به استاندارد نیم مک فارلند برسد، در ادامه پس از رسیدن به کدورت مورد نظر، توسط سوآپ پنبه‌ای آن را در دو محیط کشت مولر هینتون آگار پخش و سپس دیسک‌های آنتی بیوتیکی مورد نظر با فاصله ۲۵ میلی متر از یکدیگر روی محیط کشت گذاشته شد. سپس محیط کشت‌ها را ۱۸ ساعت در ۳۷ درجه قرار دادیم. پس از انکوباسیون ناحیه ممانعت از

پروتئین می‌تواند سبب عدم موفقیت باکتری در بیماریزایی شود (۱۹، ۲۱).

بر اساس آنچه ذکر شد، جهت بررسی و مقایسه الگوی مقاومت‌های آنتی بیوتیکی جدایه‌های مختلف *اشریشیاکلی* بدست آمده از انسان و طیور گوشتی، به عنوان یکی از منابع مهم بروز سویه‌های بیماریزا و مقاوم در انسان، مطالعه حاضر انجام شد. همچنین حضور ژن *fimH* و تفاوت‌های فیلوژنی آن در میان جدایه‌های مذکور نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری و جداسازی سویه‌ها

این مطالعه بر روی ۸۶ نمونه باکتری *اشریشیاکلی* بدست آمده از طیور گوشتی و انسان انجام شد. نمونه‌های انسانی مربوط به عفونت ادراری انسان (۲۰ عدد) و عفونت گوارشی یا اسهال انسان (۶ عدد) از بیمارستان امام علی (ع) شهرستان آمل تهیه شد. همچنین جدایه‌های مربوط به طیور گوشتی بدون علائم بالینی (۴۰ عدد)، جدایه‌های کلی باسیلوز پرندگان (۱۰ عدد) و جدایه‌های مربوط به عفونت تنفسی طیور گوشتی (۱۰ عدد) از نمونه‌های سوآب تنفسی و مدفوعی طیور گوشتی استان، ارسالی به دانشکده دامپزشکی دانشگاه تخصصی فناوریهای نوین آمل، کشت و جداسازی شد. تمام نمونه‌های بدست آمده از انسان و سپس نمونه‌های طیور گوشتی در فاصله زمانی آبان ماه تا بهمن ماه سال ۱۳۹۵ بدست آمدند. برای جداسازی *اشریشیاکلی* از محیط کشت ائوزین متیلن بلو استفاده شد و در ادامه با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی شامل تست‌های اندول، MR-VP، و سترات، سویه‌ها جهت تأیید مورد ارزیابی قرار گرفتند. تمام محیط‌های کشت و تست‌های بیوشیمیایی از شرکت‌های مدیای (HiMedia) کشور هندوستان تهیه شدند. جدایه‌های تأیید شده تا زمان

استفاده از الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵ درصد و با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید و با کمک دستگاه ترانس لومیناتور مورد مشاهده و تصویربرداری قرار گرفت. برای مقایسه طول باند محصولات PCR از مارکر DNA با اندازه ۱۰۰ جفت باز استفاده شد.

تعیین توالی محصولات PCR

جهت مقایسه نتایج واکنش زنجیره ای پلیمرز، یک نمونه از محصول PCR ژن *fimH* از جدایه انسانی /شریشیاکلی و یک نمونه از محصول PCR این ژن مربوط به جدایه طیور برای تعیین توالی به شرکت تکاپوزیست ارسال گردید. نتایج تعیین توالی بعد از ثبت در بانک ژن در درگاه مرکز ملی اطلاعات بیوانفورماتیک (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) با کمک نرم افزار MEGA نسخه ۵ با سایر توالی های مشابه در این بانک اطلاعاتی مورد مقایسه قرار گرفت و نتایج با استفاده از تست بوت استرپ به روش تامورا بصورت درخت فیلوژنی بدست آمد (۲۸).

آزمون آماری داده ها

در پایان نتایج حاصل از بررسی های ژنتیکی و فنوتیپی مربوط به مقاومت های آنتی بیوتیکی با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقدار $P < 0/05$ بعنوان سطح معنی داری برای میزان مقاومت به یک آنتی بیوتیک در جدایه ای خاص و میزان حضور ژن در گروه های مختلف جدایه ها در نظر گرفته شد و همچنین برای تعیین ارتباط از تست آماری مربع کای (chi square) استفاده گردید.

نتایج

مقاومت آنتی بیوتیکی

از مجموع ۸۶ جدایه /شریشیاکلی مورد مطالعه، بیشترین میزان مقاومت آنتی بیوتیک به ترتیب در برابر آنتی بیوتیک های اکساسیلین (۹۳/۰۲٪)، کلیستین (۹۱/۸۶٪)

رشد بر حسب میلی متر توسط خط کش اندازه گیری و با جدول استاندارد (۲۹) مقایسه شد.

استخراج DNA و آزمون واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)

قبل از انجام آزمون PCR برای شناسایی و ردیابی ژن *fimH* ابتدا استخراج DNA از کشت خالص هر کدام از جدایه ها انجام شد. در این پژوهش از روش جوشاندن (boiling) جهت استخراج DNA نمونه های باکتریایی استفاده شد. در این روش ابتدا درون هر کدام از میکروتیوب های استریل حدود ۱/۵ میلی لیتر آب مقطر استریل ریخته و سپس ۲ لوپ پر از کشت خالص باکتری را برداشته و در آن حل کردیم. در مرحله بعدی به کمک عمل ورتکس سوسپانسیون حاصل را یکنواخت نمودیم. سپس سوسپانسیون فوق را به مدت ۱۰ دقیقه درون بن ماری در دمای بیش از ۹۵ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری کرده تا سلول های باکتریایی لیز گردد و DNA آن ها آزاد شود. در ادامه میکروتیوب های حاوی سوسپانسیون را به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفوژ کردیم تا اجزاء ساختمانی پیکره باکتری رسوب کند. سپس مایع رویی حاوی DNA را در درون میکروتیوب های استریل جدید ریختیم و در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری نمودیم. در ادامه، روش PCR ساده با کمک پرایمرهای اختصاصی شامل پرایمر جلو (Forward) با توالی: 5'-ATGAAACGAGTTATTACCT-3' و پرایمر معکوس (Reverse) با توالی 5'-TTATTGATAAACAAGTCAC-3' ساخت شرکت تکاپوزیست ایران، جهت بررسی حضور ژن های مورد مطالعه در ژنوم تام استخراج شده از سوش های باکتریایی مورد استفاده قرار گرفت (۱۷). سپس محصولات واکنش PCR با اندازه ۹۰۳ جفت باز با



مقاومت آنتی بیوتیکی و ردیابی حضور... ۵۳

شناسایی شد (شکل ۱). میزان وقوع این ژن در میان جدایه های مختلف به شرح زیر می باشد: جدایه های UTI (۱۹/۲۰)، جدایه های کلی باسیلوز پرندگان یا APEC (۵/۱۰)، جدایه های تنفسی پرندگان (۱/۱۰)، جدایه های آنتریت انسانی (۰/۶) و جدایه های مدفوع پرندگان سالم (۲۵/۴۰). از نظر آماری ارتباط معناداری بین حضور ژن *fimH* در میان نمونه های مختلف از گروه های متفاوت عفونت مشاهده شد ($P < 0/05$). بطوری که جدایه های عفونت ادراری انسان وقوع و حضور بیشتری از ژن مورد نظر را نشان دادند (۹۵٪). همچنین نتایج مقاومت های آنتی بیوتیکی و آنالیز آماری آنها نشان داد که روابط معناداری بین نوع سویه ها و مقاومت آنتی بیوتیکی وجود دارد که به قرار زیر می باشد:

ارزیابی توالی محصولات PCR

توالی های بدست آمده از محصولات PCR مربوط به دو جدایه انسانی و طیور در پایگاه اطلاعاتی NCBI و در بخش بانک ژن شماره پذیرش های KY848624 و KY848625 را به ترتیب بدست آوردند. مقایسه نتایج تعیین توالی دو جدایه با سایر توالی های بانک ژن بصورت درخت فیلوژنی و جهت مقایسه میزان تفاوت های این توالی ها در شکل ۲ نشان داده شده است.

و سفالکسین (۸۹/۵۳٪) ارزیابی شد. نتایج مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه ها نسبت به همه ی آنتی بیوتیک های مورد مطالعه در جدول ۱ به تفکیک منبع جدایه های مختلف آورده شده است. مقاومت به آمپی سیلین، سولفامتو کسازول-تری متوپریم و کلیستین بصورت معناداری ($P < 0/05$) در میان جدایه های UTI اشریشیاکلی بیشتر از سایر جدایه ها بود. مقاومت به کلیستین و سفکسیم بصورت معناداری ($P < 0/05$) در میان جدایه های آنتریت انسانی اشریشیاکلی بیشتر از سایر جدایه ها بود. و مقاومت به فلورفنیکل، سولفامتو کسازول-تری متوپریم، سیپروفلوکساسین و نالیدیکسیک اسید بصورت معناداری ($P < 0/05$) در میان جدایه های اشریشیاکلی کلی باسیلوز پرندگان بیشتر از سایر جدایه ها بود. همچنین جدایه های UTI، آنتریت انسانی و کلی باسیلوز پرندگان مقاومت بالایی را نسبت به سفالوتین نسبت به سایر جدایه ها نشان دادند ($P < 0/05$). در مجموع ۷۰ الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی در جدایه ها مشاهده شد که بررسی آنها تفاوت آشکار الگوهای غالب در جدایه های با منبع متفاوت را نشان می دهد (جدول ۲).

فراوانی ژن *fimH*

در مجموع از میان ۸۶ سویه اشریشیاکلی مورد مطالعه ژن *fimH* در میان ۵۳ جدایه (۶۱/۶۲٪) ردیابی و

جدول ۱: میزان مقاومت آنتی بیوتیکی و فراوانی ژن *fimH* در میان جدایه های اشریشیاکلی بدست آمده از منابع مختلف

منبع نمونه	تعداد نمونه	فراوانی مقاومت آنتی بیوتیکی (%)													
		AMP	CFM	SXT	CL	CIP	FF	CTX	CN	GM	CF	NA	OX	T	IPM
عفونت ادراری انسان	۲۰	۱۹	۸	۱۸	۱۷	۹	۷	۱۰	۱۹	۶	۱۹	۱۰	۲۰	۱۸	۴
عفونت گوارشی انسان	۶	۴	۵	۴	۶	۳	۰	۱	۵	۱	۵	۵	۶	۶	۱
کلی باسیلوز طیور	۱۰	۳	۰	۱۰	۵	۹	۱۰	۰	۱۰	۲	۱۰	۹	۷	۳	۵
بیماری تنفسی طیور	۱۰	۰	۴	۲	۶	۱	۱	۵	۹	۱	۹	۵	۱۰	۷	۱
نمونه مدفوعی طیور گوشتی	۴۰	۱۲	۲۷	۹	۳۵	۹	۱	۱۵	۳۴	۱	۳۴	۱۰	۳۶	۳۵	۵
مجموع	۸۶	۳۸	۴۴	۴۳	۷۹	۳۱	۱۹	۳۱	۷۷	۹	۷۷	۶۰	۸۰	۶۷	۱۴
درصد	-	۴۴/۱۸	۵۱/۱۶	۵۰	۹۱/۸۶	۳۶/۰۴	۲۲/۰۹	۳۶/۰۴	۸۹/۵۳	۱۰/۴۶	۸۹/۵۳	۵۴/۶۵	۶۹/۷۶	۹۳/۰۲	۱۶/۲۷



جدول ۲: انواع الگوهای مقاومت آنتی بیوتیکی در ارتباط با ژن *fimH* و منبع جداسازی

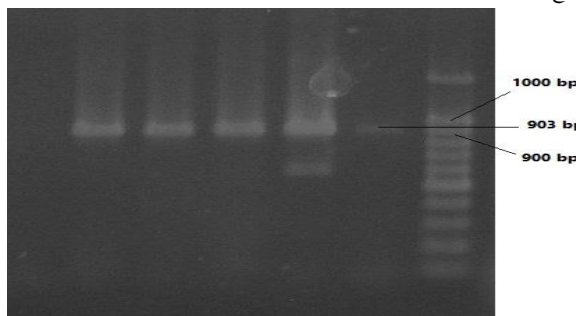
مجموع	منبع (موارد مثبت از نظر ژن <i>fimH</i>)					الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی
	AF	RI	C	D	UTI	
۱ (۱)	-	-	-	-	۱ (۱)	SXT, CIP, FF, CTX, CN, GM, CF, NA, OX, T
۱ (۱)	-	-	-	-	۱ (۱)	AMP, SXT, CIP, FF, CTX, CN, GM, CF, NA, OX, T
۱ (۱)	-	-	-	-	۱ (۱)	AMP, SXT, CIP, GM, OX, T, IMP
۳ (۳)	-	-	-	-	۳ (۳)	AMP, SXT, CL, CN, CF, OX, T
۲ (۲)	-	-	-	-	۲ (۲)	AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CTX, CN, CF, OX
۱ (۱)	-	-	-	-	۱ (۱)	AMP, CFM, SXT, CL, CIP, FF, CTX, CN, GM, CF, NA, OX, T
۱ (۱)	-	-	-	-	۱ (۱)	AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CTX, CN, GM, CF, NA, OX, T
۱ (۱)	-	-	-	-	۱ (۱)	AMP, CL, FF, CN, CF, NA, OX, T
۱ (۱)	-	-	-	-	۱ (۱)	AMP, SXT, CL, FF, CN, CF, OX, T
۱ (۱)	-	-	-	-	۱ (۱)	AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CTX, CN, CF, NA, OX, IPM
۱ (۱)	-	-	-	-	۱ (۱)	AMP, CL, CN, CF, NA, OX, T
۱ (۱)	-	-	-	-	۱ (۱)	AMP, SXT, CL, FF, CTX, CN, CF, OX, T
۱ (۱)	-	-	-	-	۱ (۱)	AMP, CFM, SXT, CL, FF, CTX, CN, CF, OX, T
۱ (۱)	-	-	-	-	۱ (۱)	AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CTX, CN, GM, CF, OX, T
۱ (۱)	-	-	-	-	۱ (۱)	AMP, SXT, CL, CN, CF, NA, OX, T, IPM
۱ (۱)	-	-	-	-	۱ (۱)	AMP, SXT, CL, CN, CF, NA, OX, T
۱ (۰)	-	-	-	-	۱ (۰)	AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CTX, CN, CF, NA, OX, T, IPM
۱ (۱)	-	-	۱ (۱)	-	-	AMP, SXT, CL, CIP, FF, CN, CF, NA, OX, T, IPM
۱ (۱)	-	-	۱ (۱)	-	-	AMP, SXT, CL, CIP, FF, CN, CF, OX, T
۱ (۰)	-	-	۱ (۰)	-	-	AMP, SXT, CL, CIP, FF, CN, CF, NA, OX
۱ (۰)	-	-	۱ (۰)	-	-	SXT, CL, CIP, FF, CN, CF, NA, OX
۱ (۱)	-	-	۱ (۱)	-	-	SXT, CL, CIP, FF, CN, GM, CF, NA, OX, T, IPM
۱ (۱)	-	-	۱ (۱)	-	-	SXT, FF, CN, CF, NA, OX
۱ (۰)	-	-	۱ (۰)	-	-	SXT, CIP, FF, CN, GM, CF, NA, OX, T
۲ (۱)	-	-	۲ (۱)	-	-	SXT, CIP, FF, CN, CF, NA, OX, T
۱ (۰)	-	-	۱ (۰)	-	-	SXT, CIP, FF, CN, CF, NA, T, IPM
۱ (۰)	-	۱ (۰)	-	-	-	CN, CF, OX
۱ (۰)	-	۱ (۰)	-	-	-	CFM, CL, CTX, CN, OX, T
۱ (۰)	-	۱ (۰)	-	-	-	CFM, CL, CN, NA, OX, T
۳ (۲)	۲ (۱)	۱ (۱)	-	-	-	CFM, CN, NA, OX, T
۱ (۰)	-	۱ (۰)	-	-	-	CN, NA, OX
۱ (۰)	-	۱ (۰)	-	-	-	CL, CIP, FF, CTX, GM, CF, NA, T, IPM
۱ (۱)	-	۱ (۱)	-	-	-	SXT, CL, CN, OX, T
۱ (۰)	-	۱ (۰)	-	-	-	CL, CTX, CN, NA, OX
۱ (۰)	-	۱ (۰)	-	-	-	SXT, CL, CTX, CN, OX, T
۱ (۰)	-	۱ (۰)	-	-	-	CFM, CTX, CN, OX, T
۲ (۰)	۱ (۰)	-	-	۱ (۰)	-	CFM, SXT, CL, CTX, CN, CF, NA, OX, T, IPM
۲ (۱)	۱ (۱)	-	-	۱ (۰)	-	AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CN, CF, NA, OX, T
۱ (۰)	-	-	-	۱ (۰)	-	SXT, CL, CIP, CF, NA, OX
۱ (۰)	-	-	-	۱ (۰)	-	AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CN, GM, CF, NA, OX, T
۲ (۱)	۱ (۱)	-	-	۱ (۰)	-	AMP, CFM, CL, CN, CF, NA, OX, T
۲ (۱)	۱ (۱)	-	-	۱ (۰)	-	AMP, CFM, CL, CN, CF, OX, T
۱ (۱)	۱ (۱)	-	-	-	-	CFM, SXT, CL, CN, NA, T, IPM
۳ (۱)	۳ (۱)	-	-	-	-	CL, CN, NA, OX, T
۱ (۱)	۱ (۱)	-	-	-	-	CN, CF, NA, OX, T
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	AMP, CFM, CL, CTX, CN, NA, OX, T
۱ (۱)	۱ (۱)	-	-	-	-	AMP, CFM, CL, NA, OX, T
۲ (۱)	۲ (۱)	-	-	-	-	CL, CN, NA, OX, T, IPM
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	CL, CN, OX
۱ (۱)	۱ (۱)	-	-	-	-	CL, NA, OX, T
۲ (۲)	۲ (۲)	-	-	-	-	CFM, CL, CTX, CN, NA, OX, T
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	CFM, SXT, CL, CTX, CN, NA, OX, T



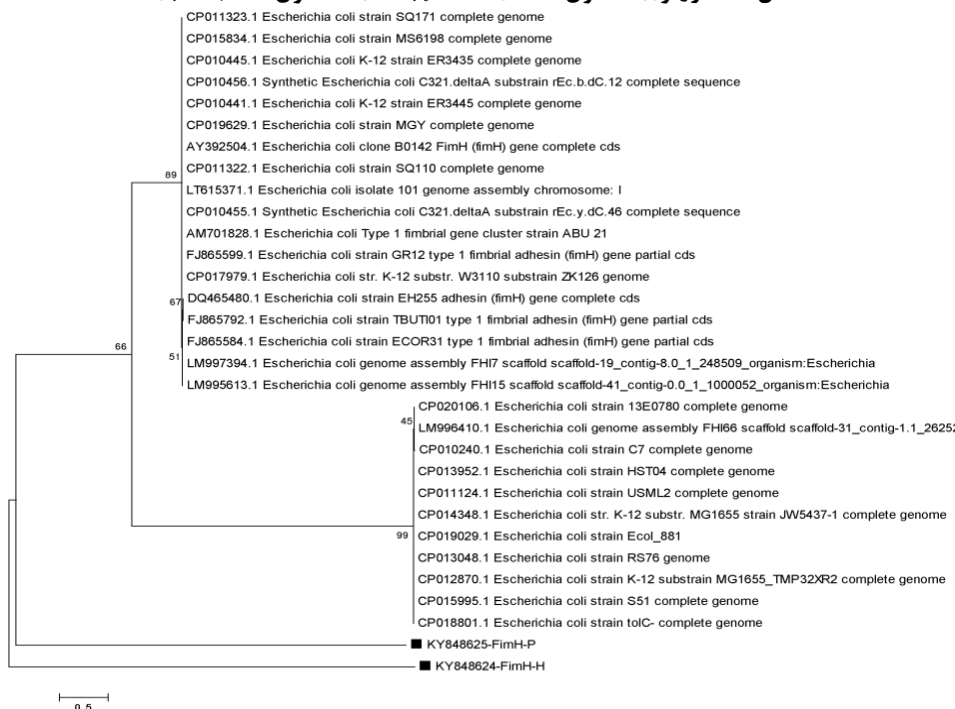
مقاومت آنتی بیوتیکی و ردیابی حضور... ۵۵

۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	CFM, CL, CIP, CTX, CN, NA, T
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	CL, CIP, CTX, CN, OX, T, IPM
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	CN, OX, T
۲ (۰)	۲ (۰)	-	-	-	-	CFM, CL, CN, NA, OX, T
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	AMP, CL, CTX, CN, CF, OX, T
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CTX, CN, CF, NA, OX, T
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	CFM, CL, CIP, CN, NA, OX, T
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	CFM, CL, OX, T
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	AMP, CFM, SXT, CL, FF, CTX, CN, NA, OX
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	AMP, CFM, SXT, CL, CTX, CN, NA, OX, T
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	AMP, CFM, CL, CN, OX, T
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	CFM, CL, CTX, CN, CF, NA, T
۲ (۲)	۲ (۲)	-	-	-	-	CFM, CL, CIP, CTX, CN, NA, OX, T
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	CFM, CL, CTX, CN, OX
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	AMP, CFM, CL, CN, NA, OX, T
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	SXT, CL, CIP, CF, NA, OX
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	AMP, CFM, SXT, CL, CIP, CN, GM, CF, NA, OX, T
۱ (۰)	۱ (۰)	-	-	-	-	-

UTI^۱ (urinary tract infection)؛ عفونت ادراری انسان، D^۲ (diarrhea)؛ عفونت گوارشی انسان، C^۳ (colibacillosis)؛ کلی باسیلوز طیور، RI^۴ (respiratory infection)؛ بیماری تنفسی طیور، AF^۵ (avian feces)؛ نمونه مدفوع طیور



شکل ۱: الکتروفورز محصول PCR ژن *fimH* با اندازه محصول ۹۰۳ جفت باز



شکل ۲: درخت فیلوژنی مقایسه توالی های ژن *fimH* با استفاده از نرم افزار MEGA5

■ شماره های مربوط به دو توالی بدست آمده از نتایج تحقیق

بحث و نتیجه گیری

با توجه به اهمیت حیوانات در چرخه تولید غذا و در انتقال و ایجاد عفونت های مختلف باکتریایی انسان، مطالعه و بررسی مداوم ویژگی های فنوتیپی و ژنوتیپی میکروارگانیسم های بیمارزا نظیر باکتری های گرم منفی روده ای امری ضروری به نظر می رسد. در دهه های اخیر با استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک های مختلف در صنعت پرورش دام و طیور بخصوص در کشورهای در حال توسعه، همواره شاهد افزایش شیوع مقاومت های آنتی بیوتیکی وابسته به چنین جدایه های حیوانی بوده ایم (۲۴، ۱۸). نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که جدایه های UTI/شیرشیاکلی مقاومت بالایی را نسبت به اکساسیلین، آمپی سیلین و سفالکسین دارا می باشند. در مورد جدایه های کلی باسیلوز پرنندگان مقاومت قابل توجهی به آنتی بیوتیک های سولفامتو کسازول-تری متوپریم، فلورنیکل، سفالوتین و سفالکسین مشاهده شد. این در حالی بود که جدایه های مربوط به عفونت های تنفسی طیور مقاومت بسیار بالایی را به آنتی بیوتیک های اکساسیلین و سفالکسین نشان دادند. این اختلاف در الگوهای مقاومت آنتی بیوتیکی در میان جدایه ها و بخصوص اختلاف بین جدایه های طیور با عوارض متفاوت، می تواند به دلیل استفاده از آنتی بیوتیک های متفاوتی باشد که در بیماری های مختلف ناشی از شیرشیاکلی در طیور مورد استفاده قرار می گیرند. همچنین در مطالعه حاضر مقاومت بالایی نسبت به اکساسیلین، اکسی تراسایکلین، کلیستین و سفالکسین در میان جدایه های شیرشیاکلی بدست آمده از طیور پرورشی سالم و بدون علائم کلینیکی مشاهده شد. طالبیان و همکاران در سال ۲۰۱۴ در بررسی الگوی مقاومت/شیرشیاکلی های طیور در شهر کرد، میزان مقاومت بالای ۸۸/۶٪ و ۷۱/۷٪ را به ترتیب برای

تایلوزین و اریترومایسین بدست آوردند (۲۷). در مطالعه دیگری که توسط کاظم نیا و همکاران در سال ۲۰۱۴ در آذربایجان غربی صورت گرفت، تمام جدایه های/شیرشیاکلی طیور و انسان به پنی سیلین و اریترومایسین مقاوم بودند (۱۴). علاوه بر موارد فوق نباید به راحتی از نقش موثر و مهم سویه های غیر بیمارزای طیور در انتشار مقاومت های آنتی بیوتیکی و حتی عوامل حدت مختلف گذشت. چراکه همواره امکان آلودگی مواد غذایی مرتبط با طیور با چنین سویه هایی وجود دارد و حضور این سویه ها در انسان می تواند احتمال انتقال مقاومت ها به سویه های بیمارزای انسانی را افزایش دهد (۱۰).

یکی از موارد مهمی که در زمینه الگوهای مقاومت مطرح می شود، مشخص نمودن موثرترین آنتی بیوتیک از میان عوامل ضد میکروبی مورد آزمایش است. در مطالعات مختلف در سال های اخیر آنتی بیوتیک های متفاوتی توسط محققین مختلف برای درمان عفونت های ناشی از شیرشیاکلی در انسان و طیور توصیه شده اند. آنتی بیوتیک هایی نظیر نیتروفوراتونین (۴)، ایمپنم و مروپنم (۶، ۲)، توبرامایسن (۲)، جنتامایسن (۱۴، ۲) و سیپروفلوکساسین (۱۴). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که موثرترین آنتی بیوتیک برای جدایه های UPEC، و سویه های دخیل در مشکلات تنفسی طیور و عفونت های گوارشی انسان به ترتیب ایمپنم، آمپی سیلین و فلورنیکل بودند. همچنین/شیرشیاکلی های جدا شده از کلی باسیلوز پرنندگان نسبت به سفوتاکسیم و سفکسیم حساسیت بالایی را نشان دادند، درحالی که جدایه های طیور سالم نسبت به جنتامایسن و فلورنیکل حساس بودند. به نظر می رسد که جدایه های طیور نسبت به داروهای مورد استفاده در درمان انسان و متعاقباً جدایه-

مقاومت آنتی بیوتیکی و ردیابی حضور... ۵۷

شیوع این ژن در جدایه های UPEC/شریشیاکلی ۳/۳۳٪ گزارش شد (۳). در مطالعه دیگری که توسط حجتی و همکاران در سال ۲۰۱۵ صورت گرفت میزان حضور این ژن در میان سویه های UPEC ۸/۹۲٪ بدست آمد (۱۱). همچنین شمس و جایدردی در سال ۱۳۹۵ این میزان را ۲۶٪ گزارش کردند که میزان شیوع نسبتاً پایینی از این ژن در میان سویه های UPEC می باشد (۱). حجم وسیعی از مستندات عنوان می کنند که سویه های طیور باکتری/شریشیاکلی تحت عنوان APEC می-توانند یک منبع بسیار محتمل برای سویه های عامل عفونت ادراری (UTI) و یا دیگر عفونت های ناشی از سویه های خارج روده ای/شریشیاکلی (ExPEC) در انسان باشد (۲۳، ۳۰). شناخت دقیق این قرابت های ژنتیکی و مشخص نمودن راه های بیماریزایی این سویه های مشترک شروع مسیر انتخاب یک راهکار مناسب برای جلوگیری از انتشار این سویه ها در میان جمعیت انسانی است. در مطالعه حاضر نیز از تعداد ۴۰ جدایه طیور گوشتی سالم ۲۷ مورد (۶۷/۵٪) دارای ژن حدت *fimH* بودند که به نوعی می تواند مؤید همین موضوع باشد که سویه های طیور/شریشیاکلی بصورت بالقوه توانایی بروز عفونت های ادراری در انسان را دارند. بررسی توالی ژن *fimH* بدست آمده از جدایه های طیور و انسان در مطالعه حاضر و ارزیابی و مقایسه آن ها با سایر توالی های مشابه در بانک ژن، تشابه دو توالی بدست آمده در این مطالعه با یکدیگر و تفاوت نسبتاً زیاد آن ها با سایر توالی های ثبت شده در پایگاه اطلاعاتی NCBI را نشان می دهد (شکل ۲).

در آخر با توجه به نتایج مطالعه حاضر، می توان ذکر کرد که الگوی مقاومت جدایه های/شریشیاکلی انسان و طیور به طور معناداری متفاوت است که می تواند بیانگر تفاوت در روش های درمانی و داروهای انتخابی در

های انسانی نسبت به داروهای مورد استفاده در دامپزشکی پاسخ های مناسبی خواهند داشت.

در روند بیماریزایی/شریشیاکلی بخصوص ایجاد عفونت های ادراری، اتصال باکتری به سلول های اپی تلیال یکی از فاکتورهای مهم پاتوژنز میکرواگانیزم می باشد. سویه های مختلف اشریشیاکلی بخصوص سویه های UPEC دارای انواع عوامل اتصال به نام پیلی یا خار هستند که نقش اصلی را در اتصال به اپیتلیال مجاری ادراری و کلیه ایفا می کنند (۱۳). یکی از مهمترین این پیلی ها، پیلی نوع ۱ (Type 1 pilli) نام دارد. خوشه ژنی *fim* که پیلی نوع ۱ را کد می کند شامل ۹ ژن است که ۷ تای آن در یک اپرون سازمان یافته اند. زیر واحد پروتئینی عمده تشکیل دهنده پیلی نوع ۱، *fimA* است و چند زیر واحد جزئی دیگر نیز به نام های *fimF*، *fimG* و *fimH* دارد. زیر واحد کوچک که *fimH* است در فرم بالغ خود از ۲۷۹ اسید آمینه تشکیل شده است. و یک واسطه برای چسبندگی به باقی مانده دی مانوز است که در سلول های ماکروفاژ اپی تلیال و بسیاری دیگر از سلول های میزبان حضور دارد (۱۶، ۲۲). هرچند که هنوز هم اندکی تردید در نقش اصلی پیلی و قدرت چسبندگی *fimH* آن وجود دارد، اما گفته می شود که *fimH* برای ایجاد عفونت دستگاه ادراری که اغلب در زنان بیشتر از مردان اتفاق می افتد ضروری است زیرا با حذف *fimH* عفونت ادراری هم ناپدید می شود (۷، ۲۵). در این مطالعه میزان حضور ژن *fimH* در جدایه های UPEC بصورت معناداری ($P < 0.05$) بیشتر از سایر جدایه های/شریشیاکلی انسان و APEC بود. این موضوع کاملاً مطابق با نقش این ژن در اتصال باکتری به اپی تلیال و بروز عفونت های ادراری می باشد. در مطالعه ای که توسط مهدیخانی و همکاران در سال ۱۳۹۴ انجام شد

شهر کرج. مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی-مولکولی،
دوره ۳، شماره ۱۲، صفحات ۹۳-۹۷.

5. Akhtar, F., Rabbani, M., Muhammad, K., Younus, M., Ghafoor, A., Sheikh, A.A., Ahmad, A., Muhammad, J., Rasool, A. and Shaheen, A.Y. (2016). Comparative antibiotic resistance profile of the multidrug resistant *E. coli* isolated from commercial and backyard poultry. *Japs: Journal of Animal & Plant Sciences* **26**:1628-1632.
6. Amiri, P., Pournajaf, A., Shavalipour, A., Tayebi, Z., Goudarzi, H., Eslami, G., Hashemi, A. and Gholami, M. (2015). Evaluation of Antimicrobial Resistance in the Beta-lactamase Producing *Escherichia Coli* Isolated from Urinary Tract Infection in the Patients Referring to Taleghani Hospital of Tehran. *Tabari Journal of Preventive Medicine* **1**: 11-19.
7. Chen, Swaine L., Chia S. Hung, Jerome S. Pinkner, Jennifer N. Walker, Corinne K. Cusumano, Zhaoli Li, Julie Bouckaert, Jeffrey I. Gordon, and Scott J. Hultgren. (2009). Positive selection identifies an in vivo role for FimH during urinary tract infection in addition to mannose binding. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **106**: 22439-44.
8. Cho, S.H., Lim, Y.S. and Kang, Y.H. (2012). Comparison of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from healthy poultry and swine farm workers using antibiotics in Korea. *Osong Public Health and Research Perspectives* **3**:151-5.
9. Ferreira, A.J.P., L. Revollo, Ferreira, C.S.A. (2009). *Colibacilose*. *Patologia Aviária*. Manole, Barueri: 67-74.
10. Hammerum, A.M., Heuer, O.E. (2009). Human health hazards from antimicrobial-resistant *Escherichia coli* of animal origin. *Clinical Infectious Diseases* **48**: 916-21.
11. Hojati, Z., Zamanzad, B., Hashemzadeh, M., Molaie, R., Gholipour, A. (2015). The *FimH* Gene in Uropathogenic *Escherichia coli* Strains Isolated From Patients With Urinary Tract Infection. *Jundishapur Journal Of Microbiology* **8**: e17520
12. Johnson, J.R., Manges, A.R., O'Bryan, T.T., Riley, L.W. (2002). A disseminated multidrug-resistant clonal group of uropathogenic *Escherichia coli* in pyelonephritis. *Lancet* **359**:2249-51.

عفونت های /شریشیاکلی انسان و طیور باشد. همچنین فراوانی ژن *fimH* در جدایه های UPEC، بیشتر از سویه های طیوری /شریشیاکلاهی بود. با این وجود با توجه به حضور این ژن که دارای نقش مؤثری در بیماریزایی این سویه ها دارد، می توان ابراز داشت که سویه های طیوری نیز بصورت بالقوه می توانند توانایی ایجاد بیماری در انسان را داشته باشند.

تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر با استفاده از منابع مالی دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل صورت گرفته است. همچنین نویسندگان مقاله کمال تشکر و قدردانی را از جناب آقای دکتر سعید سیفی بابت همکاری و مساعدت ایشان در انجام این مطالعه دارند.

منابع

- ۱- شمس، ن.، جایدری، امین. (۱۳۹۵). ردیابی مولکولی ژن کد کننده فیمبریه نوع یک (*fimH*) در سویه های اوروپاتوژنیک /شریشیاکلی جدا شده از بیماران سریایی مبتلا به عفونت مجرای ادراری. *مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا*، دوره ۶، شماره ۲، صفحات ۲۲۱-۲۲۶.
- ۲- عبدالمهی خیرآبادی، س.، نجفی پور، س.، کفیل زاده، ف.، عبدالمهی، ع.، جعفری، س.، مروج. ع. (۱۳۹۱). بررسی الگوی مقاومت دارویی در سویه های /شریشیاکلی جدا شده از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان ولی عصر شهرستان فسا. *مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا*، دوره ۲، شماره ۴، صفحات ۲۷۳-۲۷۸.
- ۳- مهدیخانی، م.، پیمانی، امیر.، ناصرپور فریور، ت و اصلانیمهر، م. (۱۳۹۴). فراوانی ژنهای کدکننده فیمبریه های نوع ۱ و P در جدایه های /شریشیاکلی بیماران بستری در بیمارستانهای کرج و قزوین، *مجله دانشگاه علوم پزشکی قزوین*، دوره ۱۹، شماره ۳، صفحات ۳۵-۴۰.
- ۴- میرمصطفی، س.م.، حدادی، ا.، امیرمظفری ثابت، ن. (۱۳۹۲). تعیین الگوی پلاسمیدی و مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه های بالینی /شریشیاکولی جدا شده از بیماران مناطق مختلف



- Nolan, L.K. (2005). Comparison of *Escherichia coli* isolates implicated in human urinary tract infection and avian colibacillosis. *Microbiology* **151**:2097-110.
24. Smith, D.L., Harris, A.D., Johnson, J.A., Silbergeld, E.K., Morris, J.G. (2002). Animal antibiotic use has an early but important impact on the emergence of antibiotic resistance in human commensal bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **99**:6434-9.
25. Sokurenko, E.V., Feldgarden, M., Trintchina, E., Weissman, S.J., Avagyan, S., Chattopadhyay, S., Johnson, J.R., Dykhuizen, D.E. (2004). Selection footprint in the FimH adhesin shows pathoadaptive niche differentiation in *Escherichia coli*. *Molecular Biology and Evolution* **21**:1373-83.
26. Srinivasan, V., Nam, H.M., Sawant, A.A., Headrick, S.I., Nguyen, L.T., Oliver, S.P. (2008). Distribution of tetracycline and streptomycin resistance genes and class 1 integrons in *Enterobacteriaceae* isolated from dairy and nondairy farm soils. *Microbial Ecology* **55**:184-193.
27. Talebiyan, R., Kheradmand, M., Khamesipour, F., & Rabiee-Faradonbeh, M. (2014). Multiple antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from chickens in Iran. *Veterinary Medicine International* 2014: Article ID 491418, 4 pages
28. Tamura, K. and Nei M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* **10**:512-526.
29. van der Sluijs, M.T., Kuhn, E.M., Makoschey, B. (2010). A single vaccination with an inactivated bovine respiratory syncytial virus vaccine primes the cellular immune response in calves with maternal antibody. *BMC Veterinary Research* **6**: 2.
30. Zhao, L., Gao, S., Huan, H., Xu, X., Zhu, X., Yang, W., Gao, Q., Liu, X. (2009). Comparison of virulence factors and expression of specific genes between uropathogenic *Escherichia coli* and avian pathogenic *E. coli* in a murine urinary tract infection model and a chicken challenge model. *Microbiology* **155**:1634-44.
13. Kaper, J.B., Nataro, J.P., Mobley, H.L. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology* **2**:123-40.
14. Kazemnia, A., Ahmadi, M., Dilmaghani, M. (2014). Antibiotic resistance pattern of different *Escherichia coli* phylogenetic groups isolated from human urinary tract infection and avian colibacillosis. *Iranian biomedical journal* **18**: 219–224.
15. Koluman, A., Dikici A. (2013). Antimicrobial resistance of emerging foodborne pathogens: status quo and global trends. *Critical Reviews In Microbiology* **39**: 57-69.
16. Krogfelt, K.A., Bergmans, H., Klemm, P. (1990). Direct evidence that the FimH protein is the mannose-specific adhesin of *Escherichia coli* type 1 fimbriae. *Infection and Immunity* **58**: 1995-8.
17. Lai, Y.M., Norgainathai, R., Zaw, M.T., Lin, Z., A (2015). A New Primer Set for Detection of *fimH* Gene in *Escherichia coli* Isolates. *International Journal of Collaborative Research on Internal Medicine & Public Health* **7**: 65-71.
18. Mathew, A.G., Cissell, R., Liamthong, S. (2007). Antibiotic resistance in bacteria associated with food animals: a United States perspective of livestock production. *Foodborne pathogens and disease* **4**: 115-133.
19. Mulvey, M.A., Lopez-Boado, Y.S., Wilson, C.L., Roth, R., Parks, W.C., Heuser, J., Hultgren, S.J. (1998). Induction and evasion of host defenses by type-1 piliated uropathogenic *Escherichia coli*. *Science* **282**:1494-7.
20. Nakazato, G., Campos, T.A., Stheling, E.G., Brocchi, M., Silveira, W.D. (2009). Virulence factors of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Pesquisa Veterinária Brasileira* **29**:479-86.
21. Pourbakhsh, S.A., Boulianne, M., Marineau-Doizé, B., Fairbrother, J.M. (1997a). Virulence mechanisms of avian fimbriated *Escherichia coli* in experimentally inoculated chickens. *Veterinary Microbiology* **58**:195-213.
22. Pourbakhsh, S.A., Dho-Moulin M., Bree A., Desautels C., Marineau-Doizé B., Fairbrother J.M. (1997b) Localization of the in vivo expression of P and F1 fimbriae in chickens experimentally inoculated with pathogenic *Escherichia coli*, *Microbial Pathogenesis* **22**:331-341.
23. Rodriguez-Siek, K.E., Giddings, C.W., Doetkott, C., Johnson, T.J., Fakhr, M.K.,

Antibiotic resistance and detection of the *fimH* gene among *Escherichia coli* isolates obtained from human and broilers

Khoshbakht, R.^{1*}, Hadinezhad, S.H.², Khosravi, M.¹, Mihankhah, A.³, Salavati, M.⁴, Mohabbat, A.⁵

1. Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran
2. Bachelor of Science, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran
3. Master of Microbial Biotechnology, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran
4. Master of Food Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Chamran, Ahvaz, Iran
5. Ph.D. of Veterinary Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Chamran, Ahvaz, Iran

Received: 10 June 2017 Accepted: 20 May 2018

Abstract

Broilers are one of the potential sources of bacterial infections particularly *Escherichia coli* infections in human. Different studies have previously showed genetic similarities between APEC (avian pathogenic *E. coli*) strains and human pathogen strains of the microorganism. In this study we evaluate the presence of the *fimH* virulence gene among human and broiler isolates of *E. coli*. In addition the antibiotic susceptibility of the strains was investigated. After collection and identification of the isolates (including 26 human isolates and 60 broilers isolates), at first, total DNA of the pure microorganisms was extracted using boiling method and then DNA samples were subjected to PCR using specific primers for *fimH* gene. Antibiotic resistance pattern was evaluated by disk diffusion methods for 14 different antibacterial agents. Among 86 *E. coli* isolates, the *fimH* gene was detected in 53 (61.62%) isolates. In addition, the isolates showed high resistance to oxacilin (93.02%), colistin (91.86%) and cephalixin (89.53%) respectively. According to the results, the prevalence of the *fimH* gene among human isolates was significantly ($P < 0.05$) higher than avian isolates. In total, 70 different antibiotic resistance patterns were observed among isolates which showed that there are significant differences between the resistance patterns of different isolates with different sources. It can be due to the use of various antibiotics in treating the complications of this bacterium in humans and livestock.

Keywords: *E. coli*, *fimH*, antibiotic resistance

*Corresponding author: Khoshbakht, R.

Address: Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran. Tel: +981144271054

E-mail address: r.khoshbakht@ausmt.ac.ir